

Количественное определение арбутина в лекарственных растительных препаратах

Н. П. Антонова, С. С. Прохвятилова, Е. П. Шефер, А. М. Калинин*,
И. М. Моргунов, Т. А. Голомазова, У. С. Легонькова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

Резюме. Арбутин — основное действующее вещество многих лекарственных растительных препаратов, обладающих диуретическим, антимикробным, бактерицидным и антиоксидантным действием. Часто эти препараты представляют собой сборы, то есть смеси нескольких видов лекарственного растительного сырья. Подходы к стандартизации таких препаратов могут существенно различаться. **Цель работы:** сравнение аналитических методик количественного определения арбутина, используемых для стандартизации арбутинсодержащих лекарственных растительных препаратов. **Материалы и методы:** объектами исследования служили однокомпонентный лекарственный растительный препарат — Толокнянки обыкновенной листья, и многокомпонентный — Бруснивер® (сбор растительный, порошок). Исследования проводились методами титриметрии, спектрофотометрии в УФ- и видимой области спектра и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). **Результаты:** проведена сравнительная оценка пяти методик количественного определения арбутина, включенных в фармакопейные статьи и нормативную документацию на арбутинсодержащие препараты. **Выводы:** установлено, что рассмотренные методики анализа не могут использоваться как взаимозаменяемые, нормы содержания арбутина должны быть установлены в условиях каждой конкретной методики. Йодометрическая методика является наиболее трудоемкой и времязатратной, определение конечной точки титрования является субъективным. Спектрофотометрические методики позволяют проводить испытания без использования стандартного образца арбутина и могут давать завышенные результаты по сравнению с титриметрической и ВЭЖХ-методиками. ВЭЖХ-методики являются более селективными, однако требуют использования стандартных образцов. Для целей контроля качества лекарственных растительных препаратов могут быть рекомендованы методики ВЭЖХ и спектрофотометрии в видимой области; титриметрическая методика рекомендуется к замене. **Ключевые слова:** арбутин; количественное определение; Бруснивер®; толокнянки обыкновенной листья; стандартизация; йодометрия; спектрофотометрия; ВЭЖХ

Для цитирования: Антонова НП, Прохвятилова СС, Шефер ЕП, Калинин АМ, Моргунов ИМ, Голомазова ТА, Легонькова УС. Количественное определение арбутина в лекарственных растительных препаратах. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(2):121–129. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-2-121-129>
* **Контактное лицо:** Калинин Артем Михайлович; Kalinin@expmed.ru

Determination of Arbutin in Herbal Medicinal Products

N. P. Antonova, S. S. Prokhvatilova, E. P. Shefer, A. M. Kalinin*,
I. M. Morgunov, T. A. Golomazova, U. S. Legon'kova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. Arbutin is the main active ingredient in many herbal medicinal products that have diuretic, antimicrobial, bactericidal, and antioxidant effects. Many of these products are mixtures of different herbal substances. Therefore, the approaches to quality control of HMPs can vary significantly. **The aim of the study** was to compare arbutin assay procedures used in quality control of arbutin-containing products. **Materials and methods:** samples of the following HMPs were used in the study: monocomponent Bearberry Leaf and multicomponent Brusniver® (herbal mixture, powder). The test methods used were titrimetry, ultraviolet-visible spectrophotometry, and high-performance liquid chromatography (HPLC). **Results:** the authors compared five arbutin assay procedures described in the monographs and product files for arbutin-containing HMPs. **Conclusions:** it has been established that the analysed procedures cannot be used interchangeably as equivalent test methods; the limits for arbutin have to be established for each specific procedure. Iodometric titration is the most labour- and time-consuming method, and the determined titration endpoint is a subjective assessment. Spectrophotometric methods do not require the use of an arbutin reference standard, but they can give overestimated results as compared to the HPLC and titrimetry methods. HPLC methods are more selective, but they require the use of reference standards. The recommended test methods for HMP quality control are HPLC and visible spectrophotometry; the titrimetric method is recommended for replacement.

Key words: arbutin; quantitative determination; assay; Brusniver®; bearberry leaf; quality control; iodometric titration; spectrophotometry; HPLC

For citation: Antonova NP, Prokhvatilova SS, Shefer EP, Kalinin AM, Morgunov IM, Golomazova TA, Legon'kova US. Determination of arbutin in herbal medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(2):121–129. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-2-121-129>

* **Corresponding author:** Artem M. Kalinin; Kalinin@expmed.ru

Арбутин — основное действующее вещество многих лекарственных растительных препаратов (ЛРП), обладающих диуретическим, антимикробным, бактерицидным и антиоксидантным действием [1, 2]. Его мочегонное действие обусловлено повышением гломерулярной фильтрации и усилением почечного кровотока, сопровождается повышением экскреции калия и креатинина, но не связано с увеличением экскреции натрия [2]. Арбутин проявляет антибактериальные и бактерицидные свойства благодаря его агликону — гидрохинону, образующемуся в желудочно-кишечном тракте в результате ферментативного гидролиза [3]. Антиоксидантное действие арбутина обусловлено, по всей вероятности, активацией факторов неферментной антиоксидантной защиты [1]. Также арбутинсодержащие растительные экстракты применяются в составе ЛРП для лечения гиперпигментации кожи, поскольку арбутин ингибирует тирозиназу — фермент, катализирующий реакцию синтеза меланина из L-тирозина [4].

Арбутин содержится в лекарственном растительном сырье толокнянки обыкновенной листьев (в сумме с метиларбутином и свободным гидрохиноном — от 8 до 25%), брусники листьев (до 9%) и бадана корневищ (от 9 до 33,3%)¹. Часто арбутинсодержащие ЛРП представляют собой смеси нескольких видов лекарственного растительного сырья — сборы (табл. 1).

Подходы к стандартизации арбутинсодержащих препаратов по основным действующим веществам (показатель «Количественное определение») различаются (табл. 2). Основной проблемой стандартизации таких ЛРП является необходимость работы с многокомпонентными извлечениями из растительного сырья, как правило, без предварительного разделения экстрагируемых из сборов веществ на отдельные составляющие, что затрудняет установление единой нормы содержания действующих веществ. Как следствие, постоянно разрабатываются новые аналитические методики качественного и количественного анализа каждого отдельного ЛРП. Ввиду расширяющегося перечня применяемых аналитических методик встает вопрос об их сравнении.

Цель работы — сравнение аналитических методик количественного определения арбутина, используемых для стандартизации арбутинсодержащих ЛРП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были использованы однокомпонентный ЛРП Толокнянки обыкновенной листья, ООО «Фито-Бот», серия 250517 (срок годности до 05.2022) и многокомпонентный

ЛРП (сбор растительный, порошок) Бруснивер®, АО «Красногорсклексредства», серия 221118 (срок годности до 12.2021).

Для приготовления раствора стандартного образца использовали стандартный образец арбутина, содержание основного вещества в котором составляло 100,0% (Sigma-Aldrich, кат. номер A4256).

Использованное оборудование: спектрофотометр Varian Cary 100; жидкостный хроматограф Agilent 1260 Infinity II; электронные весы Mettler Toledo XPE205DR; баня водяная Julabo TW-12, система очистки воды Milli-Q Integral 5.

Проведено экспериментальное сравнение пяти аналитических методик количественного определения арбутина. Для исследования были выбраны методики, используемые для оценки качества ЛРП по содержанию арбутина, включенные в утвержденные фармакопейные статьи и нормативные документы (табл. 3). Обязательным условием являлась общедоступность нормативных документов на методики оценки, а также оборудования и реактивов, необходимых для исследований, что давало возможность оценки взаимозаменяемости методик и выбора между ними.

Методика 1. Йодометрическое титрование — методика количественного определения арбутина, включенная в Государственную фармакопею СССР XI изд.² Пробоподготовка включает следующие этапы: экстракция водой при нагревании, осаждение сопутствующих соединений свинца(II) ацетатом основным, кислотный гидролиз, добавление цинковой пыли для восстановления хинонов, нейтрализация гидрокарбонатом натрия с контролем pH по лакмусовой бумаге. Количественное содержание арбутина определяют титрованием раствором йода, в качестве индикатора используется крахмал.

Методика 2. Спектрофотометрия в УФ-области, методика включена в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV изд.³ Биологически активные вещества экстрагируют 70% спиртом на установке с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Для очистки от сопутствующих веществ извлечение пропускают через стеклянную колонку, заполненную алюминия оксидом нейтральным. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 285 нм. Содержание арбутина рассчитывают с использованием значений оптической плотности стандартного образца (СО) арбутина или удельного показателя поглощения арбутина ($A_{1\text{см}}^{1\%} = 72$).

Методика 3. Спектрофотометрия в видимой области, методика включена в проект ФС «Урологический (мочегонный) сбор»⁴. Экстракцию

¹ Быков ВА, ред. Атлас лекарственных растений России. М.: ВИЛАР; 2006.

² ФС Толокнянки листья. Государственная фармакопея СССР. XI изд. Т. 2. М.: Медицина; 1989.

³ ФС.2.5.0099.18 Толокнянки обыкновенной листья. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018.

⁴ ФС Урологический (мочегонный сбор). https://static-1.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/040/203/original/%D0%A4%D0%A1_%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%B5%D0%BA%D1%82_%D0%A3%D1%80%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9-%D1%81%D0%B1%D0%BE%D1%80.docx?1538038414

Таблица 1. Арбутинсодержащие лекарственные растительные препараты
(по данным Государственного реестра лекарственных средств, <https://grls.rosminzdrav.ru>)
Table 1. Arbutin-containing herbal medicinal products (according to the National Register of Medicinal Products)

Наименование Name	Фармакологическая группа Pharmacological class	Состав Composition
Брусники листья Lingonberry leaves	Диуретики Diuretics	Брусники листья 100% <i>Vitis idaeae folia</i> 100%
Толокнянки обыкновенной листья Bearberry leaf	Диуретики, антисептики и дезинфицирующие средства Diuretics, antiseptics and disinfectants	Толокнянки обыкновенной листья 100% <i>Uvae Ursi folia</i> 100%
Бадана корневища Bergenia rhizome	Диуретики, антисептики и дезинфицирующие средства; противодиарейные средства Diuretics, antiseptics, and disinfectants; antidiarrheals	Бадана корневища 100% <i>Bergeniae rhizomata</i> 100%
Урифлорин® Uriflorin®	Диуретики, антисептики и дезинфицирующие средства Diuretics, antiseptics and disinfectants	Толокнянки обыкновенной листья 100% <i>Uvae Ursi folia</i> 100%
Бруснивер® Brusniver®	Диуретики в комбинации Combination diuretics	Брусники листья 50% <i>Vitis idaeae folia</i> 50% Череды трава 10% <i>Bidentis herba</i> 10% Шиповника плоды 20% <i>Rosae fructus</i> 20% Зверобоя трава 20% <i>Hyperici herba</i> 20%
Бруснивер-Т Brusniver-T	Диуретики в комбинации Combination diuretics	Толокнянки обыкновенной листья 30% <i>Uvae Ursi folia</i> 30% Череды трава 10% <i>Bidentis herba</i> 10% Шиповника плоды 40% <i>Rosae fructus</i> 40% Зверобоя трава 20% <i>Hyperici herba</i> 20%
Мочегонный сбор № 2 Diuretic herbal mixture, composition No. 2	Диуретики в комбинации Combination diuretics	Толокнянки обыкновенной листья 40% <i>Uvae Ursi folia</i> 40% Солодки голой корни 20% <i>Glycyrrhizae radices</i> 20% Можжевельника плоды 40% <i>Juniperi Fructus</i> 40%
Урологический (мочегонный) сбор-ф Urological (diuretic) herbal mixture-f	Диуретики в комбинации Combination diuretics	Толокнянки обыкновенной листья 40% <i>Uvae Ursi folia</i> 40% Ноготков цветки 20% <i>Calendulae flores</i> 20% Фенхеля плоды 20% <i>Foeniculi fructus</i> 20% Элеутерококка корневища и корни 10% <i>Eleutherococci rhizomata et radices</i> 10% Мяты перечной листья 10% <i>Menthae piperitae folia</i> 10%
Фитонефрол® (Урологический сбор) Phytonephrol® (Urological herbal mixture)	Диуретики в комбинации Combination diuretics	Толокнянки обыкновенной листья 40% <i>Uvae Ursi folia</i> 40% Ноготков цветки 20% <i>Calendulae flores</i> 20% Укропа огородного плоды 20% <i>Anethi fructus</i> 20% Элеутерококка корневища и корни 10% <i>Eleutherococci rhizomata et radices</i> 10% Мяты перечной листья 10% <i>Menthae piperitae folia</i> 10%

проводят водой при нагревании. Отстоявшееся водное извлечение переносят в делительную воронку, в которую затем последовательно добавляют раствор аминокантипирина, раствор аммиака и раствор калия феррицианида. Продукты реакции экстрагируют дихлорметаном. Определяют

оптическую плотность полученного раствора при длине волны 455 нм. Содержание арбутина рассчитывают с использованием удельного показателя поглощения продуктов реакции арбутина с аминокантипирином и калия феррицианидом ($A_{1\text{см}}^{1\%} = 648$).

Таблица 2. Стандартизация арбутинсодержащих лекарственных растительных препаратов
Table 2. Quality control of arbutin-containing herbal medicinal products

Наименование Name	Определяемое вещество Analyte	Способ определения Test method	Норма содержания Limits	Нормативный документ Official standard
Брусники листья Lingonberry leaf	Арбутин (сырье для производства лекарственных растительных препаратов) Arbutin (raw material for the production of herbal medicinal products)	Йодометрия Iodometric titration	Не менее 4,5% Not less than 4.5%	ГФ XI Ph. Rus. 11
		УФ-СФМ UV-SP	Не менее 4,5% Not less than 4.5%	ГФ XIV Ph. Rus. 14
	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой (сырье для производства экстрактов) Water-extractable substances (raw material for the production of extracts)	Гравиметрия Gravimetry	Не менее 18% Not less than 18%	ГФ XIV Ph. Rus. 14
Толокнянки обыкновенной листья Bearberry leaf	Арбутин (сырье для производства лекарственных растительных препаратов) Arbutin (raw material for the production of herbal medicinal products)	Йодометрия Iodometric titration	Не менее 6% Not less than 6%	ГФ XI Ph. Rus. 11
		УФ-СФМ UV-SP	Не менее 6% Not less than 6%	ГФ XIV Ph. Rus. 14
	Экстрактивные вещества, извлекаемые водой (сырье для производства экстрактов) Water-extractable substances (raw material for the production of extracts)	Гравиметрия Gravimetry	Не менее 18% Not less than 18%	ГФ XIV Ph. Rus. 14
Бадана корневища Bergenia rhizome	Дубильные вещества Tannins	Перманганатометрия Permanganometry	Не менее 20% Not less than 20%	ГФ XIV Ph. Rus. 14
	Арбутин Arbutin	ТСХ TLC	Определяется качественно Qualitative test	ГФ XIV Ph. Rus. 14
Урифлорин® Uriflorin®	Сумма фенологликозидов в пересчете на арбутин Total content of phenoglycosides expressed as arbutin	УФ-СФМ UV-SP	Не менее 0,028 г/табл. (Не менее 9% от содержания толокнянки) Not less than 0.028 g/tablet (Not less than 9% of Bearberry leaf content)	Урифлорин, таблетки. ФСП 42-0068-4130-03 Uriflorin, tablets. Manufacturer's monograph FSP 42-0068-4130-03
Бруснивер® Brusniver®	Производные гидрохинона в пересчете на безводный арбутин Hydroquinone derivatives expressed as anhydrous arbutin	Вид-СФМ Vis-SP	Не менее 2% Not less than 2%	Бруснивер сбор. ФСП 42-0309-5493-04 Brusniver, herbal mixture. Manufacturer's monograph FSP 42-0309-5493-04
	Дубильные вещества Tannins	Перманганатометрия Permanganometry	Не менее 9% Not less than 9%	Бруснивер сбор. ФСП 42-0309-5493-04 Brusniver, herbal mixture. Manufacturer's monograph FSP 42-0309-5493-04
Бруснивер-Т Brusniver-T	Производные гидрохинона в пересчете на безводный арбутин Hydroquinone derivatives expressed as anhydrous arbutin	Вид-СФМ Vis-SP	Не менее 2% Not less than 2%	Бруснивер-Т. ФСП 42-0309-5492-04 Brusniver-T. Manufacturer's monograph FSP 42-0309-5492-04
	Дубильные вещества Tannins	Перманганатометрия Permanganometry	Не менее 9% Not less than 9%	Бруснивер-Т. ФСП 42-0309-5492-04 Brusniver-T. Manufacturer's monograph FSP 42-0309-5492-04
Мочегонный сбор № 2 Diuretic herbal mixture, com- position No. 2	Арбутин Arbutin	Йодометрия Iodometric titration	Не менее 3,0% Not less than 3.0%	Мочегонный сбор № 2. ФС 42-1028-91 Diuretic herbal mixture, com- position No. 2. Pharmacopoeial monograph FS 42-1028-91

Продолжение таблицы 2
Table 2 (continued)

Наименование Name	Определяемое вещество Analyte	Способ определения Test method	Норма содержания Limits	Нормативный документ Official standard
Урологический (мочегонный) сбор-ф Urological (diuretic) herbal mixture-f	Арбутин Arbutin	Йодометрия Iodometric titration	Не менее 3,0% Not less than 3.0%	Урологический (мочегонный) сбор-ф. ЛП-001308; изм. № 1 к ЛП 001308-011211 Urological (diuretic) herbal mixture-f. Marketing authorisation LP-001308; amendment No. 1 to LP 001308-011211
Фитонефрол® (Урологический сбор) Phytonephrol® (Urological herbal mixture)	Производные гидрохинона в пересчете на безводный арбутин Hydroquinone derivatives expressed as anhydrous arbutin	Йодометрия Iodometric titration	Не менее 3,0% Not less than 3.0%	Фитонефрол® (Урологический сбор). ФСП 42-0309-6085-04 Phytonephrol® (Urological herbal mixture). Manufacturer's monograph FSP 42-0309-6085-04
		Вид-СФМ Vis-SP	Не менее 3,0% Not less than 3.0%	Фитонефрол® (Урологический сбор). ФСП 42-0309-6085-04 Phytonephrol® (Urological herbal mixture). Manufacturer's monograph FSP 42-0309-6085-04

Примечание. ТСХ — тонкослойная хроматография; УФ-СФМ — спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра; Вид-СФМ — спектрофотометрия в видимой области спектра; ГФ XI — Государственная фармакопея СССР XI изд.; ГФ XIV — Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд.; ФСП — фармакопейная статья предприятия.

Note. TLC—thin-layer chromatography; UV-SP—ultraviolet spectrophotometry; Vis-SP—visible spectrophotometry; Ph. Rus. 11—State Pharmacopoeia of the USSR, 11th ed.; Ph. Rus. 14—State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed.

Методика 4. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [5]. Хроматографируют извлечение из лекарственного растительного препарата (ЛРП), в качестве неподвижной фазы используют октадецилсилил силикагель эндкепированный (С18), в качестве подвижных фаз — раствор формиата аммония и ацетонитрил. Детектирование: УФ-детектор, длина волны 280 нм. Содержание арбутина определяют с использованием внешнего СО.

Методика 5. Высокоэффективная жидкостная хроматография, методика включена в фармакопейную статью «Толокнянки обыкновенной листья» Европейской фармакопеи⁵. Экстракцию проводят водой на водяной бане. Подвижная фаза: метанол:вода в объемном соотношении 10:90. Неподвижная фаза: октадецилсилил силикагель эндкепированный (С18). Детектирование: УФ-детектор, длина волны 280 нм. Содержание арбутина определяют с использованием внешнего СО.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты количественного определения арбутина, полученные с помощью разных методик, могут значительно различаться (табл. 4), что может быть связано с рядом факторов.

Йодометрическая методика определения арбутина является наиболее трудоемкой из предложенных — ее проведение может занимать до 6 ч, что может приводить к снижению воспроизводимости и точности. Также общим недостатком

титриметрических методик, основанных на визуальной детекции конечной точки титрования по изменению окраски индикатора, является субъективность установления точки эквивалентности.

Согласно данным литературы, осаждение сопутствующих полифенольных соединений раствором ацетата свинца основного, применяющееся в йодометрической методике, может приводить к потере до 1,5% арбутина [6], а очистка извлечения на колонке с оксидом алюминия, характерная для методики № 2 (УФ-спектрофотометрия), — до 15% арбутина [7]. Несмотря на возможную потерю арбутина во время пробоподготовки, результаты, полученные с помощью йодометрического титрования, не отличались в значительной степени от полученных с помощью большинства других методик определения арбутина.

Результаты, полученные методом УФ-спектрофотометрии, значительно отличались от полученных другими методами. Предположительно это связано с тем, что часть веществ, поглощающих излучение с длиной волны около 285 нм, элюируется с колонки вместе с арбутином, что приводит к завышению результатов испытания. Это подтверждают результаты, полученные в ходе работы (рис. 1а). Спектр поглощения образца, содержащего экстракт препарата Бруснивер®, в значительной степени отличается от спектра стандартного образца арбутина, в отличие от спектра образца, содержащего экстракт толокнянки обыкновенной

⁵ Monograph 07/2013:1054 Bearberry leaf. European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg: EDQM; 2020

Таблица 3. Сравнение условий методик количественного определения арбутина

Table 3. Arbutin assays conditions comparison

Условия Conditions		Методика 1 Procedure 1	Методика 2 Procedure 2	Методика 3 Procedure 3	Методика 4 Procedure 4	Методика 5 Procedure 5
Экстрагент Extracting agent		Вода Water	70% спирт 70% ethanol	Вода Water	40% спирт (толок- нянки обыкновен- ной листья) или вода (брусники листья) 40% ethanol (Bearberry leaf) or Water (Lingonberry leaves)	Вода Water
Соотношение сырье:экстрагент Herbal substance/ extracting agent ratio		1:150	1:200	1:50	1:110	1:50
Продолжительность экстракции, мин Extraction time, min		30	45	30	60	30
Продолжительность по- вторной экстракции, мин Second extraction time, min		20	Не проводится Not applicable	Не проводится Not applicable	Не проводится Not applicable	30
Нагрев Heating		Водяная баня Water bath	Водяная баня Water bath	Водяная баня Water bath	Водяная баня Water bath	Водяная баня Water bath
Фильтрация Filtration		Бумажный фильтр Paper filter	Бумажный фильтр Paper filter	Вата Absorbable cotton	Марля Gauze	Вата, бумаж- ный фильтр Absorbable cot- ton, paper filter
Очистка Purification		Осаждение со- путствующих соединений свинца(II) ацетатом основным Precipitation of concomitant compounds with lead(II) acetate basic	Колонка с алюми- ния оксидом Aluminum oxide column	Извлечение окрашен- ных продуктов реак- ции дихлорметаном Extraction of coloured reaction products with dichloromethane	Не проводится Not applicable	Не проводится Not applicable
Метод определения Method		Йодометрия Iodometric titration	УФ-спектро- фотометрия UV-spectrophoto- metry	Спектрофотометрия в видимой области Visible spectrophotometry	ВЭЖХ HPLC	ВЭЖХ HPLC
Аналитическая длина волны, нм Analytical wavelength, nm		Неприменимо Not applicable	285	455	280	280
Расчет Calculation		1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,01361 г арбутина 1 mL of 0.1 M iodine solution is equivalent to 0.01361 g of arbutin	Стандартный обра- зец арбутина или Удельный показатель поглощения ($A_{1\text{cm}}^{1\%} = 72$) Arbutin reference standard or Specific absorbance ($A_{1\text{cm}}^{1\%} = 72$)	Удельный показатель поглощения ($A_{1\text{cm}}^{1\%} = 648$) Specific absorbance ($A_{1\text{cm}}^{1\%} = 648$)	Стандартный образец арбутина Arbutin reference standard	Стандартный образец арбу- тина Arbutin refer- ence standard
Теоретическая концентрация арбутина в ис- пытуемом рас- творе, мкг/мл Theoretical concentration of arbutin in the test solution, µg/mL	Толокнян- ки обыкновенной листья, Bearberry leaf	0,300	0,036	0,012	0,048	0,960
	Брус- нивер®, Brusniver®	0,100	0,012	0,004	0,016	0,320
Длительность одного испытания, ч Duration of one test, h		6	2	3	2,5	3

Таблица 4. Результаты испытаний

Table 4. Test results

Методика Procedure		Толокнянки обыкновенной листья Bearberry leaf		Бруснивер® Brusniver®	
№	Метод Method	результат, % result, %	норма, % limit, %	результат, % result, %	норма, % limit, %
1	Титриметрия Titrimetry	9,3 (0,78)	Не менее 6,0 Not less than 6.0	3,9 (0,80)	—
2	УФ-спектрофотометрия UV-spectrophotometry	13,0 (1,02)	Не менее 6,0 Not less than 6.0	5,4 (1,08)	—
3	Спектрофотометрия в видимой области Visible spectrophotometry	9,1 (1,04)	—	2,5 (1,09)	Не менее 2,0 Not less than 2.0
4.1	ВЭЖХ (пик арбутина 1) HPLC (arbutin peak 1)	8,7 (0,91)	—	2,6 (0,87)	—
4.2	ВЭЖХ (сумма площадей пиков арбутина) HPLC (sum of arbutin peak areas)	8,3 (0,99)	—	2,4 (1,10)	—
5	ВЭЖХ HPLC	8,8 (0,80)	Не менее 7,0 Not less than 7.0	2,5 (0,89)	—

Примечание. В скобках указано значение относительного стандартного отклонения (RSD, %), «—» — норма не установлена.
Note. The relative standard deviation (RSD, %) is given in brackets, “—” — the limit is not set.

листьев, что, скорее всего, связано с более низкой концентрацией арбутина и недостаточной очисткой извлечения из сбора.

В свою очередь, спектры, полученные по методике № 3 (рис. 1b), имеют характерный максимум поглощения при длине волны около 455 нм и совпадают по профилю со спектром стандартного образца арбутина. Следует отметить относительно трудоемкую пробоподготовку по данной методике, которая может повлечь за собой высокую погрешность результатов испытаний. Также необходимо обратить внимание на использование в расчетах удельного показателя поглощения, что, в свою очередь, влияет на межлабораторную прецизионность (сходимость

результатов разных лабораторий) при использовании данной методики.

Методики ВЭЖХ обладают наибольшей специфичностью среди сравниваемых методик, что определяется особенностями данного аналитического метода, однако требуют использования стандартного образца арбутина. Обращает на себя внимание тот факт, что при выполнении испытаний по методике № 4 на хроматограмме стандартного образца арбутина присутствуют два пика, которые также можно отметить и на хроматограммах испытуемых растворов (рис. 2а). По условиям методики, второй пик не используется в расчетах. Если проводить вычисления по сумме пиков, то результаты получаются

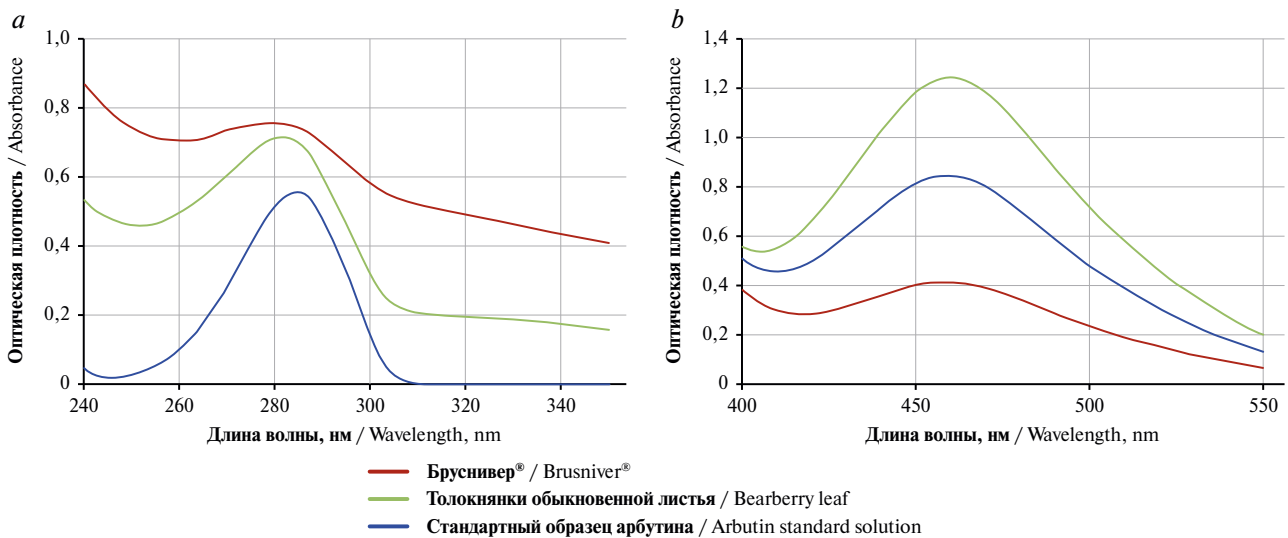


Рис. 1. Спектры поглощения растворов стандартного и испытуемых образцов, полученные по: (а) методике № 2 — УФ-спектрофотометрия, (b) методике № 3 — спектрофотометрия в видимой области
Fig. 1. Absorption spectra of the standard and test solutions obtained by: (a) test procedure No. 2, UV-spectrophotometry, (b) test procedure No. 3, visible spectrophotometry

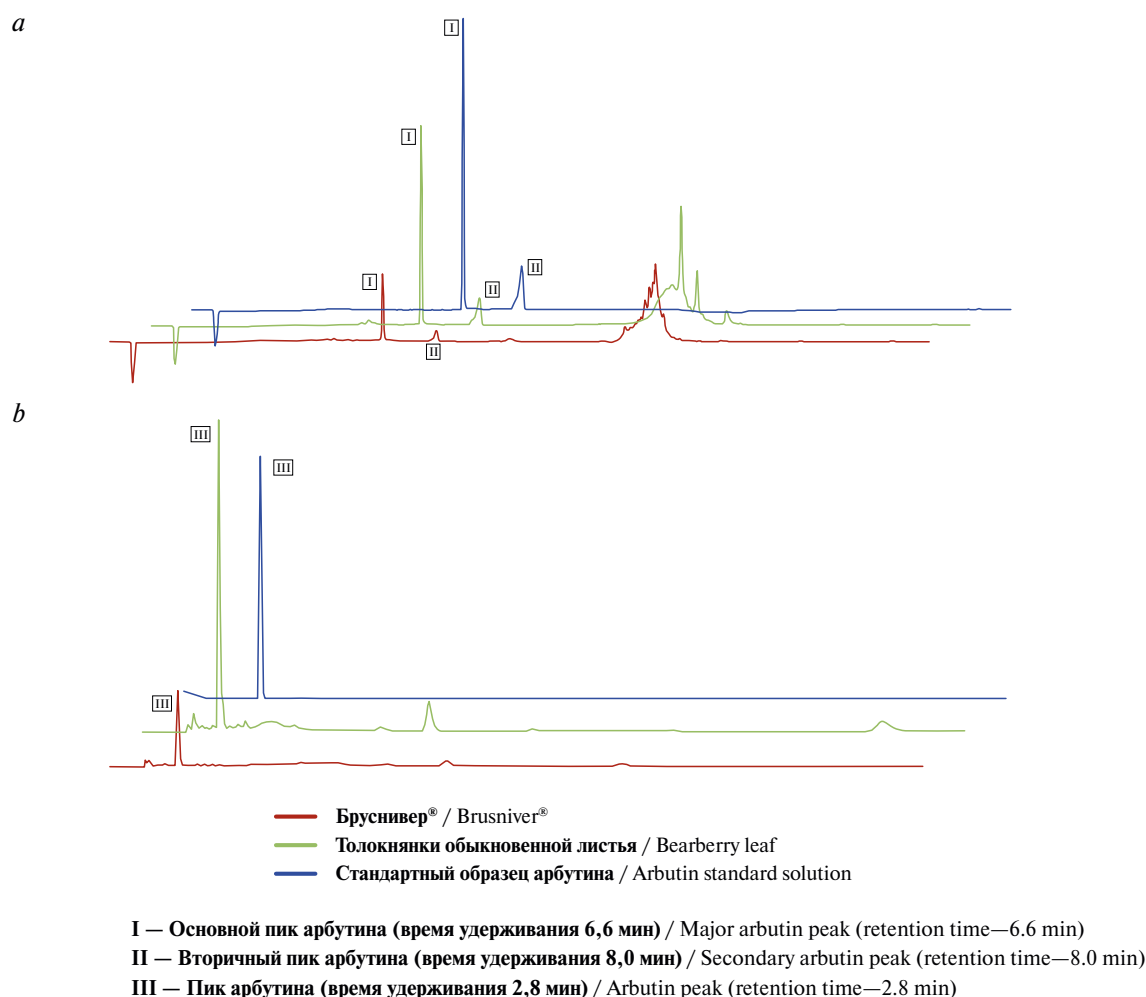


Рис. 2. Хроматограммы растворов стандартного и испытуемых образцов, полученные по: (а) методике № 4 — ВЭЖХ (время хроматографирования — 20 мин), (б) методике № 5 — ВЭЖХ (время хроматографирования — 30 мин)

Fig. 2. Chromatograms of the standard and test solutions obtained by: (a) test procedure No. 4, HPLC (run time—20 min), (b) test procedure No. 5, HPLC (run time—30 min)

немного заниженными (табл. 4). При выполнении испытаний методом ВЭЖХ в условиях методики № 5 второго пика арбутина не наблюдается (рис. 2б).

ВЫВОДЫ

1. Проведена сравнительная оценка пяти методик количественного определения арбутина, включенных в утвержденные фармакопейные статьи и нормативные документы на арбутинсодержащие препараты.

2. По результатам испытаний установлено, что методики не могут использоваться как взаимозаменяемые, нормы содержания арбутина, определенного по конкретной методике, должны быть установлены в условиях каждой конкретной методики.

3. Йодометрическая методика является наиболее трудоемкой и времязатратной, определение конечной точки титрования является субъективным.

4. Спектрофотометрические методики позволяют проводить испытания без использования

стандартного образца арбутина и могут давать завышенные результаты по сравнению с методиками ВЭЖХ и титриметрии.

5. Методики ВЭЖХ являются более селективными, однако требуют использования стандартных образцов.

6. Для целей контроля качества ЛРП могут быть предложены методики ВЭЖХ и спектрофотометрии в видимой области; рекомендуется замена титриметрической методики альтернативной.

Вклад авторов. Н. П. Антонова — идея, концепция, дизайн и планирование исследования; С. С. Прохвятилова — формулировка выводов; Е. П. Шефер — обобщение результатов исследования и интерпретация результатов; А. М. Калинин — редактирование и переработка рукописи; И. М. Моргунов — работа с литературными источниками; Т. А. Голомазова — проведение практических испытаний; У. С. Легонькова — написание чернового варианта статьи.

Authors' contributions. Natalia P. Antonova—elaboration of the study idea, concept, and design, planning of the study; Svetlana S. Prokhvatilova—drafting of conclusions; Elena P.

Shefer—consolidation and interpretation of the results; **Artem M. Kalinin**—editing and revision of the draft; **Igor M. Morgunov**—literature review; **Tatiana A. Golomazova**—experimental part of the study; **Uliana S. Legon'kova**—preparation of the draft.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Волобой НЛ, Смирнов ИВ, Бондарев АА. Особенности мочегонной активности арбутина и гидрохинона. *Сибирский медицинский журнал*. 2012;27(3):131–4. [Voloboy NL, Smirnov IV, Bondarev AA. Features of diuretic activity of arbutin and hydroquinone. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*. 2012;27(3):131–4 (In Russ.)]
2. Брюханов ВМ, Смирнов ИВ, Бондарев АА, Талалаева ОС, Шабанова ВМ, Зверев ЯФ, Удут ВВ. Влияние арбутина и гидрохинона на процессы свободно-радикального окисления в крови крыс. *Биомедицина*. 2011;1(1):41–9. [Bryukhanov VM, Smirnov IV, Bondarev AA, Talalaeva OS, Shabanova VM, Zverev YaF, Udut VV. Arbutin's and hydroquinone's influence on free radical oxidation in rats blood. *Biomeditsina = Biomedicine*. 2011;1(1):41–9 (In Russ.)]
3. Волобой НЛ, Бутакова ЛЮ, Смирнов ИВ. Изучение антимикробного действия арбутина и гидрохинона в отношении некоторых представителей грамтрицательной флоры. *Химия растительного сырья*. 2013;(1):179–82. [Voloboy NL, Butakova LYu, Smirnov IV. Study of antimicrobial arbutin and hydroquinone in certain gram-flora of representatives. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of Plant Raw Materials*. 2013;(1):179–82 (In Russ.)]
4. Hori I, Nihei K, Kubo I. Structural criteria for depigmenting mechanism of arbutin. *Phytother Res*. 2004;18(6):475–9. <https://doi.org/10.1002/ptr.1456>
5. Никулин АВ, Окунева МВ, Горьяинов СВ, Потанина ОГ. Разработка и валидация методики определения арбутина в листьях толокнянки методом ВЭЖХ/УФ. *Химико-фармацевтический журнал*. 2019;53(8):29–33. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2019-53-8-29-33> [Nikulina AV, Okuneva MV, Goryainov SV, Potanina OG. Development and validation of an HPLC-UV method for arbutin determination in bearberry leaves. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019;53(8):736–40. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-02071-3>]
6. Федосеева ЛМ. Анализ арбутина подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fitch.), произрастающего на Алтае. *Химия растительного сырья*. 2003;(1):73–7. [Fedoseeva LM. Arbutin determination in underground and herbal parts of *Bergenia crassifolia* (L.) Fitch, growing in Altai. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of Plant Raw Materials*. 2003;(1):73–7 (In Russ.)]
7. Фурса НС, Онегин СВ. Содержание арбутина в траве вереска обыкновенного. *Фармация*. 2007;(6):12–4. [Fursa NS, Onegin SV. Arbutin levels in the ling (*Calluna vulgaris*). *Farmatsiya = Pharmacy*. 2007;(6):12–4 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Антонова Наталья Петровна, канд. биол. наук. *Natalia P. Antonova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>

Прохватилова Светлана Степановна, канд. фарм. наук. *Svetlana S. Prokhvatilova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>

Шефер Елена Павловна, канд. фарм. наук. *Elena P. Shefer*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>

Калинин Артем Михайлович. *Artem M. Kalinin*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4980-3248>

Моргунов Игорь Михайлович. *Igor M. Morgunov*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3907-3456>

Голомазова Татьяна Александровна. *Tatiana A. Golomazova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9917-9367>

Легонькова Ульяна Сергеевна. *Uliana S. Legon'kova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4646-0876>

Статья поступила 13.11.2020

После доработки 14.01.2021

Принята к печати 31.05.2021

Article was received 13 November 2020

Revised 14 January 2021

Accepted for publication 31 May 2021